

红麻细胞质雄性不育系与保持系苗期耐冷生理研究

廖小芳 周步进 杨健 陈鹏 周琼 周瑞阳*

(广西大学农学院,南宁 530005)

摘要 以7组红麻细胞质雄性不育系/保持系为材料,研究在12℃/6℃(昼/夜)低温胁迫下幼苗叶片相对电导率、丙二醛、脯氨酸、可溶性糖、可溶性蛋白含量及SOD和POD活性的变化,结果表明:持续低温胁迫下,红麻叶片的相对电导率、脯氨酸、可溶性糖、可溶性蛋白含量变化和SOD活性表现为先升高后降低;而POD活性和丙二醛含量则在胁迫9~15 d后增加。利用隶属函数法和干物质重2种方法评定红麻材料间耐寒性强弱,发现相对电导率、可溶性蛋白和可溶性糖是反映红麻耐冷性差异的基本指标,上述2种方法比较红麻耐寒性强弱,其相关性达0.837**。供试的材料组合中耐寒性较强的材料分别是917A/B、722A/B和K03A/B。本研究结果可为今后进一步研究红麻耐冷防御措施和低温生理生化育种提供理论参考。

关键词 红麻; 低温胁迫; 不育系; 保持系; 耐冷性

中图分类号 S 563.5; S 311

文章编号 1007-4333(2012)03-0049-08

文献标志码 A

Physiological research of cold resistance on CMS and maintainer lines in kenaf leaves

LIAO Xiao-fang, ZHOU Bu-jin, YANG Jian, CHEN Peng, ZHOU Qiong, ZHOU Rui-yang*

(College of Agronomy, Guangxi University, Nanning 530005, China)

Abstract Seven groups of cytoplasmic male sterile lines(CMS)/ maintainer lines of kenaf were used to study the changes of relative electric conductivity(Rec),contents of MDA,proline,soluble sugar,soluble protein and the activities of SOD and POD under low temperature(12 ℃ /6 ℃ ,day/night). Results showed that the changes of Rec,contents of proline,soluble sugar,soluble protein and the activities of SOD were increased initially then decreased. However, the changes of MDA and the activity of POD were increased significantly after 9 ~ 15 days low temperature stress. The Rec, soluble sugar and soluble protein were the basic indicators in evaluating the difference in cold stress of kenaf, and the correlation of the two methods of evaluation on subordinate function value and dry matter weight was 0.837($P<0.01$) ; The three groups of 917A/B, 722A/B, K03A/B were performed very well under cold stress condition. The results provided theoretical foundation for further developing cold damage protection methods and breeding for low temperature tolerance.

Key words kenaf; low temperature stress; CMS; maintainer lines; cold resistance

红麻(*Hibiscus cannabinus* L.)是锦葵科木槿属一年生草本植物,可用于织麻袋、绳索、造纸等,是一种重要的经济作物。红麻以收获韧皮纤维或茎秆为栽培目的,播种越早,产量越高。但红麻是喜温作物,低温影响红麻出苗和生长,因此,选育出苗期耐低温品种具有重要意义。研究表明,低温胁迫下植

物的质膜透性、叶片的可溶性糖、可溶性蛋白、脯氨酸和丙二醛随胁迫时间的延长而表现出先升高后降低的变化趋势^[1-3],植物过氧化物酶(POD)、超氧化物歧化酶(SOD)和过氧化氢酶(CAT)活性也受到低温环境影响^[4]。关于红麻不育系与保持系的耐冷性研究,黄其椿^[5]用木芙蓉做砧木嫁接红麻,使其能

收稿日期: 2012-02-09

基金项目: 现代农业产业技术体系建设专项资金(CARS-19-E16); 广西研究生教育创新计划(GXU11T32559)

第一作者: 廖小芳,硕士研究生,E-mail:liaoxiaofang12@163.com

通讯作者: 周瑞阳,教授,博士,主要从事棉麻作物遗传育种与栽培生理研究,E-mail:ruiyangzhou@yahoo.com.cn

够安全越冬,周琼等^[6]研究比较了红麻不育系与保持系越冬期间抗寒性发现不育系高于保持系。植物的耐冷性是受多种因素共同调节的,因此要从多方面对其进行耐冷性进行综合评价。

本研究选用红麻7对不育系/保持系,在低温胁迫下通过测定其相对电导率、脯氨酸、丙二醛、可溶性糖、可溶性蛋白含量及SOD和POD活性的变化,探讨各指标与红麻抗寒性的关系,并通过隶属函数评价供试材料苗期耐冷性,为红麻苗期耐冷性的鉴定及组配强耐冷性杂交组合提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 供试材料

以周瑞阳等^[7]选育的7对细胞质雄性不育系/保持系P3A/P3B、L23A/L23B、K03A/K03B、917A/917B、722A/722B、763A/763B和F3A/F3B为材料。其不育细胞质源于红麻野生种UG93突变体。

1.2 研究方法

1.2.1 材料的处理

供试材料种植在广西大学农学院实验实习农场网室。种植时,取上述14个材料饱满一致的种子300粒左右用75%的酒精杀菌30 s,常温浸种2 h,然后将种子播到装有基质、蛭石和营养土(比例为:1:1:2)的育苗杯中,每个材料12个育苗杯,待其发芽1周左右间苗,每个育苗杯保留生长健壮、长势一致的幼苗5~6株,待其长到7~8片真叶后将植株从网室移至人工气候箱,在人工模拟低温环境12 °C/6 °C(昼/夜)下进行低温胁迫,于低温胁迫0、3、

6、9、12和15 d取其倒4和倒5功能叶片测定相关生理生化指标。

1.2.2 生理生化指标的测定

分别采用电导法^[8]、磺基水杨酸法^[8]、硫代巴比妥酸法^[8]、G-250考马斯亮蓝法^[8]、蒽酮比色法^[8]、氮蓝四唑法^[9]和愈创木酚法^[9]分别测定质膜透性、脯氨酸、丙二醛(MDA)、可溶性蛋白、可溶性糖含量及SOD和POD活性。

1.2.3 数据分析

采用EXCEL 2007和SPSS 18.0统计软件进行数据处理和分析,方差分析用Duncan新复极差法,耐冷力综合评价采用模糊隶属函数法^[10-13]。

1)隶属函数表示:若某一指标与耐寒性呈正相关,其公式为: $X_j = (X - X_{\min}) / (X_{\max} - X_{\min})$;若某一指标与耐寒性呈负相关,则公式为: $X_j = 1 - (X - X_{\min}) / (X_{\max} - X_{\min})$ 。

式中: X_j 为测定隶属函数值, X 为某一指标测定值, X_{\max} 为指标测定值中的最大值, X_{\min} 为指标测定值中的最小值。

2)干物质积累量相对变化(DMA)=(低温胁迫后干物质量-低温胁迫前干物质积累量)/低温胁迫后干物质积累量。

2 结果与分析

2.1 低温胁迫对红麻叶片细胞膜透性的影响

相对电导率反映了低温胁迫对红麻幼苗叶片细胞质膜透性的变化,对7组材料测定结果见表1。从表中可以看出,各材料在不同胁迫时间下质膜相对外渗率差异显著($P < 0.05$);在低温处理时间内,

表1 低温胁迫对红麻幼苗叶片相对渗透率的影响

Table 1 Effect of relative conductivity in kenaf leaves under low temperature

材料	胁迫时间/d					
	0	3	6	9	12	15
P3A	0.10±0.00 d	0.26±0.02 abc	0.21±0.01 a	0.24±0.01 b	0.17±0.01 c	0.17±0.01 b
P3B	0.07±0.00 g	0.21±0.02 ef	0.22±0.02 a	0.36±0.01 a	0.19±0.01 bc	0.14±0.01 c
L23A	0.13±0.01 b	0.17±0.01 gh	0.17±0.01 bc	0.10±0.01 f	0.11±0.01 ef	0.18±0.01 b
L23B	0.06±0.00 h	0.16±0.01 h	0.13±0.01 de	0.13±0.01 e	0.10±0.01 fg	0.24±0.02 a
K03A	0.08±0.00 fg	0.28±0.02 ab	0.18±0.01 b	0.11±0.01 f	0.21±0.01 b	0.10±0.01 e
K03B	0.13±0.01 b	0.23±0.01 cde	0.11±0.02 ef	0.16±0.01 d	0.11±0.01 ef	0.12±0.01 d
917A	0.09±0.00 def	0.22±0.02 def	0.09±0.01 g	0.14±0.00 e	0.27±0.02 a	0.09±0.00 ef
917B	0.09±0.00 f	0.19±0.02 fg	0.07±0.01 gh	0.11±0.01 f	0.14±0.01 de	0.14±0.01 c

续表

材料	胁迫时间/d					
	0	3	6	9	12	15
722A	0.14±0.01 b	0.20±0.01 ef	0.08±0.01 gh	0.15±0.01 de	0.07±0.01 h	0.11±0.01 de
722B	0.15±0.00 a	0.15±0.02 h	0.06±0.01 h	0.08±0.01 g	0.07±0.01 h	0.07±0.01 fg
763A	0.08±0.00 g	0.26±0.03 ab	0.08±0.01 g	0.10±0.01 fg	0.11±0.01 ef	0.06±0.01 g
763B	0.07±0.00 g	0.27±0.01 ab	0.15±0.02 cd	0.24±0.00 b	0.27±0.03 a	0.14±0.02 c
F3A	0.12±0.01 c	0.25±0.02 bcd	0.19±0.01 b	0.21±0.02 c	0.14±0.02 d	0.07±0.01 fg
F3B	0.10±0.01 de	0.29±0.01 a	0.09±0.01 fg	0.14±0.01 e	0.08±0.01 gh	0.10±0.01 de
A 平均值	0.11±0.00	0.23±0.02	0.14±0.01	0.15±0.01	0.15±0.01	0.15±0.01
B 平均值	0.10±0.00	0.21±0.01	0.12±0.01	0.17±0.01	0.14±0.01	0.14±0.01

注:同列小写字母表示差异显著($P<0.05$),下表同。

红麻不育系和保持系膜相对外渗率呈双峰曲线变化趋势。绝大多数材料在胁迫3 d后质膜相对外渗率达到最大值,然后随着胁迫时间的延长质膜相对外渗率逐步降低,部分材料胁迫9 d后脂膜相对外渗率再一次升高,其中P3B的升幅最大。说明低温胁迫后,短期(一般3~6 d)内脂膜透性受到较大伤害;但在继续冷胁迫条件下,其伤害逐渐降低。即植

物在冷害胁迫条件下存在一种自我调整的生理机制,但不同材料的调整速度和能力有显著差异。

2.2 低温胁迫对红麻幼苗可溶性蛋白、可溶性糖和脯氨酸含量的影响

低温胁迫对红麻幼苗叶片可溶性蛋白、可溶性糖和脯氨酸含量的影响在一定胁迫时间内表现出先降后升或者是先升后降的变化趋势。从表2可知,

表2 低温胁迫对红麻叶片可溶性蛋白含量的影响

Table 2 Effect of soluble protein in kenaf leaves under low temperature

mg/g

材料	胁迫时间/d					
	0	3	6	9	12	15
P3A	0.59±0.02 f	0.58±0.00 de	0.45±0.01 fg	0.98±0.04 d	0.58±0.02 f	0.72±0.04 a
P3B	0.88±0.03 e	0.48±0.03 gh	0.26±0.01 h	1.39±0.11 ab	0.68±0.04 e	0.65±0.02 b
L23A	1.28±0.02 a	0.67±0.00 c	0.69±0.01 a	1.39±0.07 ab	0.44±0.02 h	0.69±0.04 a
L23B	0.87±0.06 e	0.51±0.01 fg	0.51±0.04 e	1.17±0.02 c	0.49±0.00 gh	0.58±0.02 c
K03A	1.04±0.08 bc	0.57±0.02 de	0.47±0.01 f	1.37±0.07 ab	0.80±0.04 c	0.58±0.01 c
K03B	0.76±0.04 e	0.90±0.01 a	0.42±0.03 g	1.30±0.13 bc	0.77±0.01 cd	0.50±0.03 de
917A	0.76±0.06 e	0.85±0.03 b	0.57±0.03 d	1.47±0.03 a	0.71±0.06 de	0.47±0.01 e
917B	1.08±0.08 bc	0.59±0.02 d	0.56±0.01 d	1.26±0.12 bc	0.52±0.02 fg	0.19±0.01 h
722A	1.00±0.10 cd	0.47±0.03 gh	0.67±0.01 ab	1.27±0.06 bc	0.50±0.02 gh	0.32±0.00 f
722B	0.80±0.01 e	0.81±0.02 b	0.64±0.04 bc	1.30±0.02 bc	1.06±0.06 b	0.23±0.02 g
763A	1.13±0.19 b	0.54±0.06 ef	0.44±0.03 fg	0.68±0.06 f	0.79±0.05 c	0.72±0.02 a
763B	0.86±0.04 e	0.47±0.03 gh	0.41±0.01 g	0.75±0.01 f	0.58±0.03 f	0.57±0.02 c
F3A	0.76±0.05 e	0.45±0.05 h	0.42±0.01 g	0.75±0.07 f	1.05±0.05 b	0.35±0.03 f
F3B	0.89±0.02 d e	0.68±0.02 c	0.61±0.02 c	0.69±0.04 f	1.20±0.07 a	0.52±0.03 d
A 平均值	0.94±0.06	0.59±0.03	0.53±0.02	1.13±0.06	0.70±0.04	0.55±0.02
B 平均值	0.88±0.04	0.63±0.02	0.49±0.02	1.12±0.12	0.76±0.04	0.46±0.02

在不同胁迫时间条件下各材料幼苗叶片可溶性蛋白的含量存在显著或极显著差异;在低温胁迫15 d内,绝大多数不育系和保持系叶片中可溶性蛋白呈现出先下降、后上升、再下降的变化。胁迫后的第6天,叶片的可溶性糖含量降至最低值,第9天(763A、F3A和F3B在第12天)达最大值,随后又逐渐下降。说明在低温胁迫条件下,植株不断进行自我调整的生理过程。

红麻各材料在不同低温胁迫时间内,幼苗叶片可溶性糖含量存在显著或极显著差异;红麻不育系和保持系中可溶性糖的变化趋势是先上升后下降,绝大多数材料在胁迫第6天达最高值,少部分材料如763A/B,F3A/B等则在低温胁迫3 d就达到最高值。此后,随着胁迫时间的延长,可溶性糖含量逐步降低,胁迫15 d,可溶性糖含量与胁迫前的含量趋于相等。比较可溶性蛋白和可溶性糖含量变化趋势可知,多数材料的叶片可溶性糖出现峰值的时间比可溶性蛋白早3 d,但763A、763B、F3A和F3B早

6~9 d。说明叶片可溶性糖含量的提高是叶片可溶性蛋白含量提高的基础。

随着胁迫时间的延长,各材料脯氨酸所测含量的变化差异显著,绝大多数的材料在胁迫第6天,脯氨酸的含量达到最大值,其中P3B的增幅最显著。随着胁迫时间的延长,脯氨酸的含量逐渐降低。但917A在胁迫12 d脯氨酸含量才达到最大值。比较叶片可溶性糖与脯氨酸含量出现峰值的时间发现,多数材料同时出现峰值,但763A/B和F3A/B表现为叶片可溶性糖比脯氨酸含量出现峰值的时间早3 d。说明可溶性糖含量的提高是抗寒性的基础。

2.3 低温胁迫对红麻幼苗 SOD 和 POD 活性和丙二醛(MDA)的影响

从表3可知,随着低温胁迫时间的延长,SOD活性变化表现为先升后降,但各材料出现峰值的时间不一致,大部分材料在低温胁迫第3~9天SOD活性达到最大值,随着低温胁迫时间的延长,SOD活性逐渐降低。而低温诱导红麻叶片POD活性随

表3 低温胁迫对红麻叶片SOD活性的变化

Table 3 Changes of SOD activities in kenaf leaves under low temperature

U/(g·min)

材料	胁迫时间/d					
	0	3	6	9	12	15
P3A	180.96±2.8 a	227.28±3.02 d	331.85±2.71 a	285.23±4.21 a	219.10±4.86 c	192.56±4.33 c
P3B	167.54±4.6 b	357.38±6.08 a	229.82±3.55 d e	226.49±4.61 e	165.95±4.44 e	181.04±5.31 d
L23A	154.91±5.96 c	177.81±5.28 fg	261.89±4.25 b	264.37±3.53 b	85.24±3.14 i	165.55±5.35 e
L23B	94.17±3.62 e	254.93±6.87 c	200.61±4.61 gh	171.24±2.91 i	157.30±4.04 f	113.51±5.27 h
K03A	119.42±2.74 e	210.41±3.02 e	222.72±3.54 ef	181.19±2.62 h	134.77±5.63 h	91.61±6.18 i
K03B	91.68±4.68 e	113.82±7.07 i	232.42±1.47 d	242.11±4.08 d	141.11±1.82 g	80.62±4.48 j
917A	155.67±4.13 c	215.17±5.21 e	203.79±4.95 g	208.68±5.38 g	91.21±4.03 i	135.87±5.23 g
917B	49.70±3.39 f	134.36±2.18 h	232.48±2.40 d	243.42±3.16 d	128.94±4.16 h	114.03±4.40 h
722A	93.73±4.43 e	102.49±5.63 j	255.60±5.73 b	268.10±4.21 b	203.76±1.38 d	174.85±1.75 d
722B	141.15±3.65 d	185.31±4.45 f	193.92±5.18 h	284.50±2.17 a	207.20±5.90 d	228.21±1.94 a
763A	175.39±3.29 a	263.35±6.65 c	247.40±3.85 c	256.89±4.90 c	206.15±1.77 d	220.20±2.64 b
763B	139.67±2.93 d	273.56±5.84 b	258.12±4.35 b	204.03±2.57 g	268.43±2.97 a	190.99±4.16 c
F3A	165.38±3.25 b	256.08±1.75 c	219.03±5.97 f	218.38±2.76 f	223.66±1.91 c	134.11±3.10 g
F3B	136.02±3.77 d	173.17±4.70 g	244.48±5.93 c	204.86±5.95 g	254.31±2.08 b	156.61±4.33 f
A平均值	149.35±3.8	207.53±4.37	248.90±4.29	240.41±3.77	166.27±3.25	159.25±4.08
B平均值	117.13±3.80	213.20±5.31	227.41±3.93	225.24±3.81	189.04±3.63	152.14±4.27

着胁迫时间的延长逐渐升高,绝大多数材料 POD 的活性在胁迫 15 d 后达到最高值。但 P3A/B、722B 和 763B 其最大峰值出现在第 12 天。SOD 和 POD 是一类活性氧化酶,对保护酶系统具有重要意义,但它们出现峰值的时间并不同步,说明 SOD 和 POD 可能执行其防御功能时是相互协调和互补的。

MDA 做为脂膜过氧化产物,是植物对逆境环境适应的一项重要指标,在持续低温 12 °C/6 °C(昼/夜)胁迫下不同材料 MDA 表现为胁迫第 9 天达最大值(与可溶性蛋白出现峰值的时间同步),9~15 d 维持一个较高含量。但在此期间,不同材料的

MDA 含量差异较大,反映了不同材料的耐冷性差异。

2.4 红麻耐寒力的综合评价

2.4.1 隶属函数评价红麻不育系及保持系耐冷性

采用模糊隶属函数分析方法,将 7 对不育系/保持系耐冷性的生理指标隶属度与各材料隶属函数平均值进行相关系数分析(表 4)。相关系数居前 3 位的分别是:可溶性蛋白、可溶性糖和相对电导率,说明质膜相对渗透率是反映红麻耐冷性差异的基本指标,而可溶性糖和可溶性蛋白是红麻耐冷性的物质基础;从各材料耐冷性排序可知,除了 763A/B 以外,各材料不育系和保持系的耐冷性差异不大;将不

表 4 红麻苗期耐低温生理指标隶属函数值评价

Table 4 Evaluation on subordinate function value of low-temperature resistance physiology indexes in kenaf leaves

材料	指标							△	排序	△ A+B	A+B 排序
	1	2	5	3	4	6	7				
P3A	0.08	0.17	0	0.58	0.62	1.00	0.46	0.42	10	0.96	4
P3B	0.00	0.46	0.61	1.00	0.58	0.80	0.35	0.54	4		
L23A	0.62	1.00	0.1	0.09	1.00	0.39	0.28	0.50	8	0.90	6
L23B	0.63	0.32	0.53	0.42	0.64	0.19	0.05	0.40	11		
K03A	0.41	0.78	0.8	0.61	0.66	0.19	0.27	0.53	5	0.99	3
K03B	0.55	0.66	0.67	0.41	0.50	0.01	0.42	0.46	9		
917A	0.48	0.78	0.96	0.32	0.48	0.20	0.28	0.50	7	1.03	2
917B	0.75	0.37	1	0.34	0.82	0.00	0.42	0.53	6		
722A	0.75	0.39	0.6	0.19	0.69	0.40	0.91	0.56	3	1.15	1
722B	1.00	0.79	0.6	0.27	0.65	0.65	0.19	0.59	1		
763A	0.82	0.43	0.51	0.32	0.00	0.88	1.00	0.57	2	0.91	5
763B	0.10	0.00	0.4	0.20	0.41	0.84	0.45	0.34	13		
F3A	0.37	0.09	0.5	0.00	0.21	0.48	0.61	0.32	14	0.71	7
F3B	0.64	0.63	0.41	0.40	0.14	0.50	0.00	0.39	12		
相关系数	0.48	0.57	0.37	0.27	0.33	-0.08	0.24				
A 平均值	0.50	0.52	0.5	0.35	0.52	0.61	0.54	0.49			
B 平均值	0.52	0.46	0.61	0.39	0.53	0.33	0.27	0.46			

注:1 为相对电导率;2 为可溶性蛋白;3 为可溶性糖;4 为脯氨酸;5 为丙二醛;6 为 SOD;7 为 POD。△表示各材料隶属函数的平均值。

同组配的不育系/保持系进行耐冷性强弱排序,其顺序为:722A/B>917A/B>K03A/B>P3A/B>763A/B>L23A/B>F3A/B;对不育系和保持系各指标隶属求平均值,除了不育系的可溶性蛋白含

量、SOD 和 POD 活性比保持系强以外,各指标的平均隶属函数值差别不大。

2.4.2 红麻耐冷力与生物质干重变化关系

红麻在低温胁迫前后生物质干重相对变化是其

耐冷性强弱的直观反映,对所测各生理指标平均值与红麻低温胁迫前后生物干重变化进行相关性分析,结果见表5。相对电导率、可溶性蛋白、可溶性糖和丙二醛相关系数与低温胁迫下红麻生物干重变化差异显著,而其他生理指标相关性差异不显著,但植物响应低温冷害是多种因素综合作用的结果,其

他各项指标也对低温胁迫下红麻生物质干重变化有一定影响。比较隶属函数和干物质变化2种方法对红麻不育系和保持系耐冷性的强弱顺序,2种方法相关性为0.837^{**},差异达到极显著水平。说明采用综合隶属函数评价红麻不育系和保持系耐冷性的方法是可靠的。

表5 各生理指标与红麻低温胁迫前后生物积累量的关系

Table 5 Relation between physiological indexes and dry matter accumulation of kenaf in cold stress

材料	(X ₁)	(X ₂)	(X ₃)	(X ₄)	(X ₅)	(X ₆)	(X ₇)	生物质积累 相对变化	排序
P3A	0.19	0.65	0.10	17.91	8.35	238.94	7.46	0.25	13
P3B	0.20	0.72	0.14	24.68	8.54	221.37	6.81	0.28	12
L23A	0.14	0.86	0.10	9.88	6.51	184.96	6.34	0.76	5
L23B	0.14	0.69	0.13	15.26	8.27	167.52	4.92	0.40	11
K03A	0.16	0.81	0.15	18.29	8.14	167.52	6.27	1.62	3
K03B	0.14	0.78	0.14	15.02	8.93	151.46	7.19	0.45	10
917A	0.15	0.81	0.16	13.56	9.03	168.40	6.33	1.03	4
917B	0.12	0.70	0.16	13.90	7.37	150.49	7.23	2.74	2
722A	0.12	0.71	0.14	11.38	7.99	185.48	10.21	0.56	8
722B	0.10	0.81	0.14	12.83	8.21	207.66	5.76	2.94	1
763A	0.12	0.72	0.13	13.62	11.35	228.51	10.80	0.68	6
763B	0.19	0.61	0.12	11.57	9.35	224.41	7.39	0.21	14
F3A	0.16	0.63	0.13	8.36	10.33	193.33	8.41	0.56	7
F3B	0.13	0.77	0.12	14.90	10.67	194.35	4.61	0.46	9
相关系数 (correlations)	-0.58*	0.37*	0.53*	-0.11	-0.35*	-0.33	-0.17		

注:1为相对电导率;2为可溶性蛋白;3为可溶性糖;4为脯氨酸;5为丙二醛;6为SOD;7为POD。*表示0.05的显著差异水平。

3 讨论

3.1 低温胁迫处理下相对电导率的变化与植物的耐冷性

细胞膜是植物受到低温寒害后的原初位点^[14],细胞质膜相对外渗率的变化是反映植物受到低温逆境胁迫的一个重要指标。植物遭受持续低温后,引起细胞脱水、膜破裂、细胞膨压丧失及胞质外渗从而引起电导率的变化^[15]。本研究中,在温度为12℃/6℃(昼/夜)的持续低温胁迫条件下,植物体内相对

电导率增大;随着胁迫时间的延长,相对电导率降低,植物生物膜通过脂膜的变化进行适应性调整来抵御低温寒害^[16]。有研究指出细胞膜透性变化越大,植物的抗寒性就越弱^[17]。

3.2 低温胁迫下可溶性糖、可溶性蛋白和脯氨酸含量变化与红麻的耐冷性

可溶性糖、可溶性蛋白可做为渗透保护物质^[18]。崔国文^[19]研究表明植物体内可溶性糖、可溶性蛋白含量与植物的抗寒性呈正相关有利于提高植物的抗寒性。本研究中红麻在低温胁迫前期可溶性

糖含量随着胁迫时间的延长而呈上升的趋势,这与颉建明等^[20]研究的结果一致。而可溶性蛋白含量则在胁迫后期变化显著,由此可见可溶性糖是提高耐冷性的基础。

脯氨酸可做为细胞内的渗透调节物质和膜稳定剂。李小安^[21]研究表明,低温胁迫下,植物体内脯氨酸含量升高有利于提高植物的耐寒性。而梅俊学^[22]和刘娥娥等^[23]的研究则认为脯氨酸的积累与植物的抗性无关,更适宜做胁迫敏感性指标。本研究中,14个材料脯氨酸含量在低温胁迫条件下都有一定量的积累。表明植物体内游离脯氨酸在植物体内起渗透调节作用,以保持细胞内环境的稳定,不同材料间游离脯氨酸存在很大的差异,这可能与红麻间耐寒力差异有关。

3.3 低温胁迫下膜保护酶系统的变化与红麻的耐寒性

SOD 和 POD 是植物体内防御系统中重要的酶类,能够防止植物膜系统产生过氧化的作用^[24-27],植物的耐冷性与 SOD 和 POD 酶活性呈正相关^[28-29]。本研究中,低温胁迫初期 SOD 的活性都升高,这与王宁等^[30]及郭卫东等^[31]的研究结果一致。而 POD 酶活性在胁迫后期变化比较显著,比 SOD 活性的峰值晚 3 d。MDA 做为植物对逆境环境反应强弱的一项重要指标^[32-33],其积累是活性氧毒害作用的表现^[34]。本研究中植物中 MDA 的含量分别在第 3 和第 9 天出现最高值,低温胁迫的前期 POD 执行过氧化作用较弱,细胞脂膜受害严重,MDA 含量增加。随着低温胁迫时间的延长,POD 清除过氧化物能力加强,细胞脂膜过氧化产物减少,MDA 含量降低。表明低温胁迫下细胞膜保护酶系统之间通过相互协调、相互作用的生理机制共同抵御低温寒害。

3.4 不育系与保持系耐冷性分析

植物应答低温胁迫是多种因素共同相互作用形成的综合性状,通过模糊隶属函数法对测定的多个指标进行综合评价,得出相对电导率、可溶性蛋白和可溶性糖是反映红麻耐冷性差异的基本指标。不育系与其相应的保持系耐冷性相近的有 P3A/B、917A/B 和 F3A/B,其余不育系与保持系耐冷性差异较大,但 7 对不育系与保持系平均隶属函数值和相对干物质积累量差异很小,对各个材料的不育系

和保持系单独比较分析得知,红麻幼苗时期不育系耐寒力比保持系强但差异不显著,这与黄其椿^[5]、周琼等^[6]和吴峰等^[35]的研究结果一致。但王书强等^[36]在白菜细胞质雄性不育系与保持系的生理生化指标的研究中发现存在差异。通过隶属函数和低温胁迫前后红麻生物质干重变化 2 种方法评价不育系和保持系的耐冷性强弱,其相关性达到极显著水平,说明隶属函数法综合分析红麻耐冷性的方法是较可靠的。

本研究通过测定与低温寒害相关的生理指标,筛选出耐冷性较强的 CMS/保持系组合分别是 917A/B、722A/B 和 K03A/B。为后期进一步研究红麻耐冷防御措施和生理生化育种提供参考。

参 考 文 献

- [1] 姚远,闵义,胡新文,等. 低温胁迫对木薯幼苗叶片转化酶及可溶性糖含量的影响[J]. 热带作物学报, 2010, 31(4): 556-560
- [2] 杨玉珍,彭方仁. 低温胁迫对香椿幼苗蛋白质含量及特异蛋白表达的影响[J]. 中国农学通报, 2010, 26(7): 115-119
- [3] 应叶青,魏建芬,解楠楠,等. 自然低温胁迫对毛竹生理生化特性的影响[J]. 南京林业大学学报:自然科学版, 2011, 35(3): 133-136
- [4] 覃智慧,李远发,唐春红,等. 低温胁迫对乐东拟单性木兰幼苗生理生化特性的影响[J]. 山东林业科技, 2011, 192(1): 23-26
- [5] 黄其椿. 红麻雄性不育系与保持系抗寒性鉴定与越冬栽培研究[D]. 南宁: 广西大学, 2009: 55-63
- [6] 周琼,李正文,周瑞阳. 红麻雄性不育系、保持系及杂交 F 代越冬期间抗寒性的比较研究[J]. 热带作物学报, 2011, 32(1): 79-82
- [7] 周瑞阳. 红麻雄性不育株的发现[J]. 中国农业科学, 2002, 35(2): 212
- [8] 邹琦. 植物生理生化实验指导[M]. 北京: 中国农业出版社, 1997
- [9] 李合生. 植物生理生化实验原理和测定技术[M]. 北京: 高等教育出版社, 2003: 165-258
- [10] 张国新,王秀萍,鲁雪林,等. 隶属函数法鉴定水稻品种耐盐性[J]. 安徽农学通报, 2011, 17(01): 36-37
- [11] 许桂芳,张朝阳,向佐湘. 利用隶属函数法对 4 种珍珠菜属植物的抗寒性综合评价[J]. 西北林学院学报, 2009, 24(3): 24-26
- [12] 高克昌,韩云丽,赵随堂,等. 用隶属函数对小扁豆品种进行综合评价[J]. 杂粮作物, 2007, 24(1): 22-26
- [13] 魏秀俭. 玉米自交系耐旱性的模糊隶属函数法分析[J]. 山东农业科学, 2005(2): 25-27
- [14] Lyons J M. Chilling injury in plants [J]. Ann Rev Plant Physiol, 1973, 24: 445-446
- [15] Wanner L A, Juntila O. Cold induced freezing tolerance in

Arabidopsis[J]. Plant Physiol, 1999, 120:391-400

- [16] Kasamo K, Kagita F, Yamanishi H, et al. Low temperature-induced changes in the thermotropic properties and fatty acid composition of the plasma membrane and tonoplast of cultured rice(*Oryza sativa* L.) cells[J]. Plant Cell Physiol, 1992, 33: 609-616
- [17] 刘慧英,王祯丽,王玉华.不同品种辣椒种子发芽和苗期耐冷性差异的研究[J].石河子大学学报:自然科学版, 2002, 6(1): 23-26
- [18] 冯献宾,董倩,王洁.低温胁迫对黄连木抗寒生理指标的影响[J].中国农学通报, 2011, 27(8): 23-26
- [19] 崔国文.紫花苜蓿田间越冬期抗寒生理研究[J].草地学报, 2009, 17(2): 145-150
- [20] 颜建明,郁继华,颜敏华.低温弱光下辣椒3种渗透调节物质含量变化及其与品种耐性的关系[J].西北植物学报, 2009, 29(1): 105-110
- [21] 李小安.低温胁迫对青藏扁豆与和田苜蓿种子游离脯氨酸和可溶性糖含量的影响[J].青海大学学报:自然科学版, 2011, 29(4): 10-13
- [22] 梅俊学.逆温下发菜脯氨酸含量及质膜透性的变化与含水量的关系[J].山东师范大学报:自然科学版, 2000, 15(2): 178-181
- [23] 刘娥娥,宗会,郭振飞,等.干旱、盐和低温胁迫对水稻幼苗脯氨酸含量的影响[J].热带亚热带植物学报, 2008(3): 235-238
- [24] 张泽煌.低温胁迫对茄子的危害及茄子抗寒生理[J].福建农学报, 2000, 15(1): 40-42
- [25] 彭昌操,孙中海.低温锻炼期间柑橘原生质体SOD和CAT活

性的变化[J].华中农业大学学报, 2000, 19(4): 384-387

- [26] 马翠兰,刘星辉,胡又厘.抽品种间的耐寒性及其机理[J].福建农业大学学报, 1998, 27(2): 160-165
- [27] Ishikaw A W, Robertson A J, Gusta L V. Comparison of viability tests for assessing cross adaptation to freezing, heat and salt stresses induced by abscisic acid in bromegrass suspension cultured cells[J]. Plant Sci, 1995(107): 83-93
- [28] 朱文哲,李景富,王傲雪.低温胁迫对多毛番茄幼苗生理生化特性的影响[J].东北农业大学学报, 2011, 42(4): 57-61
- [29] 陈虎,何新华,李晓强,等.低温胁迫对龙眼幼树抗寒性的影响[J].广西农业科学, 2010, 41(1): 7-10
- [30] 王宁,吴军,夏鹏云,等.大叶冬青对低温胁迫的生理响应及抗寒性分析[J].华南农业大学学报, 2011, 32(3): 82-86
- [31] 郭卫东,张真真,蒋小伟,等.低温胁迫下佛手半致死温度测定和抗寒性分析[J].园艺学报, 2009, 36(1): 86-89
- [32] 鲁福成,王明启,魏雪生.逆境条件下几种蔬菜作物生理指标的变化[J].天津农业科学, 2001, 7(2): 6-9
- [33] 高福元,张吉立,刘振平,等.持续低温胁迫对园林树木电导率和丙二醛含量的影响[J].山东农业科学, 2010, 81(2): 47-81
- [34] 尚湘莲.蔬菜低温胁迫与抗冷性研究进展[J].长江蔬菜, 2002, 学术专刊, 18-20
- [35] 吴峰,刘玉梅,孙德岭,等.辣椒胞质雄性不育系与保持系生化特性研究[J].天津农业科学, 2008, 14(2): 50-52
- [36] 王书强,崔辉梅,石国亮.大白菜Ogura雄性不育系及保持系生理生化分析[J].新疆农业科学, 2011, 48(1): 110-115

责任编辑:袁文业